α-萜品醇熏蒸对大麦虫体内抗氧化酶活性的影响

田雨浓 1 ,马 伟 2 ,韦庆慧 3 ,罗 帅 1 ,韩旭洋 1 ,陈旭日 1 ,邱本军 1 ,马 玲 1,* (1. 东北林业大学林学院,哈尔滨 150040; 2. 黑龙江中医药大学药学院,哈尔滨 150040;

3. 东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040)

摘要: 为研究植物挥发性有机化合物 α-萜品醇的杀虫活性及作用机理,本研究采用熏蒸法测定了 α-萜品醇对大麦虫 Zophobas morio(鞘翅目: 拟步行甲科)4 龄幼虫的急性毒性,并测定了不同熏蒸时间后幼虫体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性。结果表明: 熏蒸 48 h 时,α-萜品醇对大麦虫 4 龄幼虫的 LC_{50} 和 LC_{20} 值分别为 69.425 μ g/L 和 59.916 μ g/L。α-萜品醇(LC_{20} 和 LC_{50})处理的 4 龄幼虫 SOD,POD 和 CAT 活性均表现为先升高后降低的趋势。据此推测,α-萜品醇在幼虫体内积累显著影响幼虫体内 SOD,POD 和 CAT 活性,降低虫体内自由基的清除能力,从而对其产生毒害作用。

关键词: 大麦虫; α -萜品醇; 熏蒸; 急性毒性; 保护酶; 酶活性

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2013)01-0047-07

Effects of α -terpineol fumigation on the *in vivo* antioxidant activity in Zophobas morio (Coleoptera: Tenebrionidae)

TIAN Yu-Nong¹, MA Wei², WEI Qing-Hui³, LUO Shuai¹, HAN Xu-Yang¹, CHEN Xu-Ri¹, QIU Ben-Jun¹, MA Ling^{1,*} (1. School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; 2. Pharmaceutical College, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 3. College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: In order to study the insecticidal activity and toxicity mechanism of α -terpineol, a plant volatile organic compound, we tested the acute toxicity of α -terpineol against the 4th instar larvae of *Zophobas morio* in a gas-fumigation system and investigated the *in vivo* activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) in the treated larvae at different fumigation duration. The results showed that the LC₅₀ and LC₂₀ values of α -terpineol against the 4th instar larvae in acute toxicity test at 48 h after fumigation were 69. 425 μ g/L and 59. 916 μ g/L, respectively. Under the fumigation of α -terpineol at two concentrations (LC₅₀ and LC₂₀), the activities of SOD, POD and CAT showed a time-course change, first increasing and then decreasing. It is so inferred that the gradual accumulation of α -terpineol in the treated larvae produces significantly negative effects on the activities of SOD, POD and CAT in their bodies, and this may lead to a decline in scavenging activity of free radicals and stronger toxic effects on *Z. morio* larvae.

Key words: Zophobas morio; α-terpineol; fumigation; acute toxicity; protective enzymes; enzyme activity

昆虫等生物体内存在由超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶(CAT)及过氧化物酶(POD)构成的保护酶系统,这3种酶系协调一致,处于动态平衡而使自由基维持在一个较低水平,从而防止其产生毒害(Fridovich,1977;李周直等,1994)。在低温等逆境中,昆虫体内的保护酶系统会发生明显变化(Aucoin et al.,1991; Grubor-Lajsic et al.,1997)。在农田生态系统中,非杀虫药剂也可影响

昆虫的保护酶系统(刘井兰等, 2001), 杀虫药剂对昆虫保护酶的影响更为明显, 该酶系的变化或与中毒死亡有关(Bolter and Chefurka, 1990), 或与昆虫的耐药性有关(李周直等, 1994)。

大麦虫 Zophobas morio(鞘翅目: 拟步行甲科), 俗称麦片虫、麦谷虫或超级面包虫,是我国从东南 亚国家引进的昆虫,通常将其作为昆虫实验材料进 行的生物学、形态学、分类学、酶学与环境学等方

基金项目: 林业公益性行业专项(201104069); 黑龙江省科技攻关项目(GA09B203-1)

作者简介:田雨浓,女,1987年生,黑龙江省漠河人,硕士研究生,研究方向为森林有害生物综合防治学,E-mail: yunong198818@ yahoo.com.cn

^{*}通讯作者 Corresponding author, E-mail: maling63@163.com

收稿日期 Received: 2012-09-12; 接受日期 Accepted: 2012-12-30

面的研究 (Fleissner et al., 1993; Kutsch et al., 1993; Scofield et al., 1995; Viviani et al., 2009; 苗少娟和张雅林, 2010)。由于大麦虫易饲养、无抗药性,且具有较强的抗氧化性(郭倩等, 2011),因此本研究选取了大麦虫为供试昆虫。

α-萜品醇(α-terpineol)是存在于多种植物精油 中的一种单萜类化合物(刘群等,1991;程必强等, 1992; 徐汉虹等, 1994; 刘立鼎等, 1996)。目前, 国内外对 α-萜品醇的研究主要集中在成分分离、结 构鉴定和生物活性研究领域(Chamorro et al., 2008; Bhatia et al., 2008; Grover et al., 2012; Park et al., 2012; Waliwitity et al., 2012)。含有 α-萜品醇的植 物精油在杀虫活性以及对害虫的引诱、忌避、拒食 和毒杀等方面都有研究,如猪毛蒿 Artemisia scoparia、狭叶阴香 Cinnamomum burmaniif heynamem 等植物精油可抑制玉米象 Sitophilus zeamais、赤拟 谷盗 Tribolium castaneum 及谷蠹 Rhyzopertha dominica 3 种储粮害虫的种群繁殖(徐汉虹等, 1993);猪毛蒿、黄花蒿 Artemisia annua、大籽蒿 Artemisia sieversiana 植物精油对绿豆象 Callosobruchus chinensis 有很强的熏杀活性和一定的 触杀作用(袁海滨等, 2007)。Lee 等(1997)发现 α-萜品醇可以有效地保护玉米根不受玉米根萤叶甲 Diabrotica virgifera 的危害。周贤闯(2011)研究发 现, α-萜 品 醇 对 致 倦 库 蚊 Culex pipiens quinquefasciatus 有良好的驱避和熏杀效果。为进一 步明确 α -萜品醇的杀虫活性及杀虫作用机理, 本研 究测定了 α -萜品醇对大麦虫4龄幼虫的生物活性, 并就 α-萜品醇对大麦虫体内 SOD, POD 和 CAT 活 性的影响进行了首次探讨, 旨在初步探明 α-萜品醇 对昆虫的杀虫机理,为开发环境友好、高效、安全 的新型杀虫剂提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试昆虫

大麦虫 Z. morio 和麦麸均购自哈尔滨大发花鸟虫鱼市场。大麦虫置于温度 23 ±2℃,相对湿度 65%,光周期 12L:12D 的生化培养箱中,用麦麸喂养,驯化 15 d 后挑选健壮、大小、颜色一致的大麦虫 4 龄幼虫用于实验。

1.2 主要试剂

考马斯亮蓝 G-250、牛血清白蛋白(BSA)、苯甲基磺酰氟(PMSF)、二硫苏糖醇(DTT)、乙二胺

四乙酸(EDTA)、核黄素(VB2)和对硝基苯酚(p-nitrophenol)均购自 Amresco 公司; α-萜品醇购自 Sigma 公司;愈创木酚(o-methoxyphenol)购自天津市光复精细化工研究所; L-甲硫氨酸(Met)、苯酚(phenol)、硝基氮蓝四唑(NBT)和过氧化氢(hydrogen peroxide)均购自国药集团化学试剂有限公司。

1.3 主要仪器

电热恒温水浴锅(上海森信实验仪器有限公司),电子天平(美国奥豪斯 Explorer Pro),高速冷冻离心机(美国 Kendro 实验室产品公司),Cary 100/300 双光束紫外可见分光光度计(美国瓦里安中国有限公司),电热恒温鼓风干燥器(上海齐欣科学仪器有限公司),超纯水器(美国 MILLIPORE 公司),HPG-400BX 400HX 光照培养箱(哈尔滨东联电子技术开发有限公司),TH-500BQ 超声波清洗仪(济宁天华超声波电子仪器有限公司),制冰机(日本三洋电机株式会社),玻璃匀浆器(黑龙江省誉航科学器材有限公司),微量移液器(上海大龙医疗设备有限公司)。

1.4 α-萜品醇对大麦虫的急性毒性测定

采用广口瓶密闭熏蒸法(张海燕等,2004)进行毒性测定。以丙酮作为助溶解剂(终浓度不超过0.5%),通过预实验确定致死浓度范围后,将α-萜品醇配置成5个浓度梯度,设置相同的溶剂为对照,将健壮、大小、颜色一致的4龄大麦虫幼虫15头放入1000 mL的广口瓶中,每个浓度为1个实验组,每个实验组设置3个平行试验,观察大麦虫的中毒症状并及时挑出死亡个体,分别于熏蒸处理12,24,36 和48 h 后统计死亡数,以毛笔触碰试虫,试虫对机械刺激无反应者视为死亡。

1.5 用于酶活性测定的试虫处理

试虫处理方法同上。根据 α -萜品醇对大麦虫 4 龄幼虫的毒力测定结果,以 48 h 的 LC_{50} 为基准,选用丙酮液(丙酮: 蒸馏水 = 2:1, v/v) 配制成母液,之后再用蒸馏水稀释成亚致死浓度 LC_{20} ,以相同溶剂为空白对照组。将健壮、大小、颜色一致的大麦虫幼虫放入 1 000 mL 的广口瓶中,每处理 30 头,每个浓度 3 个重复,分别于熏蒸处理 12, 24, 36 和 48 h 后进行取样,储存于 -80° 冰箱用于制备酶液。

1.6 酶液制备

随机选取 3 头大麦虫幼虫加 10 mL 预冷的提取 液,玻璃匀浆器冰浴充分匀浆,于 4%, 15 079 g 离心 30 min,上清液即为酶液。SOD, POD 和 CAT 提

取所用匀浆液为 0.05 mol/L PBS(含 1% PVP, 0.04% 苯基硫脲和 10 mmol/L EDTA, pH 7.8)。

1.7 酶活性测定

蛋白质含量测定参照 Bradford (1976) 的考马斯 亮蓝 G-250 法。

SOD 活性测定参照 Beauchamp 和 Fridovich (1971)方法,略有改进。3 mL 反应液(含 50 mmol/L pH 7.8 PBS, 13 mmol/L Met, 0.1 mmol/L EDTA, 75 μ mol/L NBT),加入 25 μ L 粗酶液,最后加入 0.6 mL 0.5 mmol/L 核黄素,以不加酶液管作为最大光还原管,光照培养箱中温度 25℃,三级光照下 (4 000 lx)处理 15 min 后,立即避光迅速测定 OD₅₆₀ 值。

POD 活性测定参照陈尚文(2001)方法,略有改进。3 mL 反应体系中含 100 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.0)、30 mmol/L 愈创木酚、26 mmol/L 过氧化氢和 150 μ L 酶液,反应 5 min,在波长 470 nm 处测定 OD 值。

CAT 活性测定参照 Cohen 等(1970)方法,略有改进。取 $0.5 \sim 0.6$ mL 30% H₂O₂,加水至 50 mL,从中取出 4 mL,加入 26 mL 0.05 mol/L PBS(pH 7.0),测定 240 nm 的 OD 值,如其 OD 值在 $0.50 \sim 0.55$,即作为过氧化氢酶的底物溶液,取 3 mL 配

制的底物溶液,在 25 ℃条件下加入粗酶液 $20~\mu$ L,立即用紫外分光光度计在 240~nm 下每隔 30~s 读一次,记录 3~min。

1.8 数据统计与分析

采用 POLO 软件计算 α -萜品醇对大麦虫幼虫的 半致死浓度(LC_{50})和亚致死浓度(LC_{20})以及 95% 置信区间。运用 SPSS16.0 软件统计同一时间处理 下不同浓度 α -萜品醇对酶活性影响,采用 Duncan 方法进行显著性分析(P=0.05),用 Excel2010 绘图。

2 结果与分析

2.1 α-萜品醇对大麦虫 4 龄幼虫的急性毒性

 α -萜品醇对大麦虫 4 龄幼虫 48 h 的毒力测定结果见表 1。从表 1 中可以看出, α -萜品醇对大麦虫幼虫 12,24,36 和 48 h 的 LC_{50} 分别为 120. 142,111. 116,86. 636 和 69. 425 μ g/L, LC_{20} 分别为82. 526,74. 336,64. 146 和 59. 916 μ g/L,随着作用时间的延长半致死浓度 LC_{50} 和亚致死浓度 LC_{20} 均逐渐降低,表明 α -萜品醇对大麦虫的毒性作用随时间延长逐渐加强。

表 1 α-萜品醇对大麦虫 4 龄幼虫的毒力
Table 1 Toxicity of α-terpineol to the 4th instar larvae of Zophobas morio

处理时间(h) Treatment time	斜率 Slope ± SE	LC ₅₀ (95% CL) (μg/L)	LC ₂₀ (95% CL) (μg/L)	卡方值 Chi-square
12	5.160 ± 1.352	120.142 (102.120 – 184.745)	82.526 (71.632 - 94.963)	2.862
24	4.821 ± 1.124	111.116 (95.934 – 153.337)	74.336 (63.384 – 84.025)	6.562
36	6.448 ± 1.138	86.636 (79.475 – 96.927)	64.146 (55.208 - 70.492)	9.700
48	13.155 ± 1.852	69.425 (65.369 – 73.366)	59.916 (54.621 -63.826)	8.466

2.2 α-萜品醇对大麦虫 4 龄幼虫体内保护酶活性 的影响

本研究选择 α -萜品醇 48 h 的 LC_{50} (69.425 μ g/L) 和 48 h 的 LC_{20} (59.916 μ g/L) 作为处理浓度,测定 α -萜品醇对大麦虫幼虫保护酶的影响。

2.2.1 对 SOD 活性的影响: 从图 1 中可以看出, 两种浓度的 α-萜品醇处理大麦虫 4 龄幼虫 12 h, 处理组的 SOD 活性均高于对照, 分别为对照的 1.37

和1.30 倍,表现为显著激活作用(P < 0.05)。两种浓度处理大麦虫幼虫 24,36 和 48 h,处理组 SOD 活性均低于对照,表现为抑制作用。 LC_{20} 浓度处理大麦虫幼虫时,除 36 h 以外,其余时间段均表现为显著的抑制作用(P < 0.05);处理 48 h 时抑制作用最大,抑制率为 38.34%;而 LC_{50} 浓度处理大麦虫幼虫时,只有处理 48 h 后才出现显著的抑制作用(P < 0.05),抑制率为 27.18%。

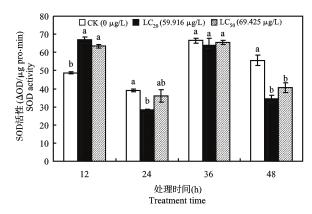


图 1 LC_{50} 和 LC_{20} 浓度的 α -萜品醇对大麦虫 4 龄幼虫体内 SOD 活性影响

Fig. 1 Effect of α -terpineol of LC_{50} and LC_{20} concentrations on SOD activity in the 4th instar larvae of Zophobas morio 图中数据为平均值 \pm 标准差,柱上不同小写字母表示同一时间不同 浓度间差异显著 (Duncan 氏检验,P < 0.05);下图同。Data in the figure are mean $\pm SD$, and those with different small letters above bars are significantly different at the 0.05 level at the same time among different α -terpineol concentrations by Duncan's test. The same for the following figures.

2.2.2 对 POD 活性的影响: 从图 2 中可以看出,两种浓度的 α -萜品醇处理大麦虫 4 龄幼虫 12 h,处理组 POD 活性均高于对照,分别为对照的 1.47 和 1.14 倍,表现为显著的激活作用(P < 0.05); 处理后 24,36 和 48 h, LC_{20} 和 LC_{50} 浓度处理的幼虫 POD 活性均低于对照,表现为显著的抑制作用(P < 0.05); LC_{20} 浓度处理 24 h 时的抑制作用最大,抑制率为 64.66%,而 LC_{50} 浓度处理 48 h 时的抑制作用最大,抑制率为 50.40%。

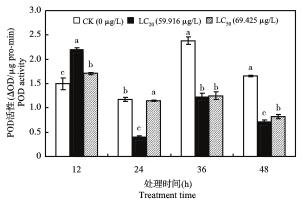


图 2 LC₅₀和 LC₂₀浓度的 α-萜品醇对大麦虫幼虫体内 POD 活性影响

Fig. 2 Effect of α -terpineol of LC₅₀ and LC₂₀ concentrations on POD activity in the 4th instar larvae of Zophobas morio

2.2.3 对 CAT 活性的影响: 从图 3 中可以看出,

LC₂₀浓度的 α -萜品醇处理大麦虫 4 龄幼虫 12, 24 和 36 h, CAT 活性均高于对照,分别为对照的 1.22, 1.05 和 1.56 倍,表现为激活作用,且处理 24 和 36 h 时处理组与对照组幼虫 CAT 活性的差异均达到了显著水平(P<0.05);处理 48 h 时的 CAT 活性低于对照,表现为显著的抑制作用,抑制率为 39.43%。LC₅₀浓度处理 12 h 时的 CAT 活性高于对照,表现为显著的激活作用(P<0.05),为对照的 1.16 倍;而处理幼虫 24,36 和 48 h, CAT 活性均低于对照,表现为显著的抑制作用(P<0.05);处理 24 h 时的抑制作用最大,抑制率为 55.53%。

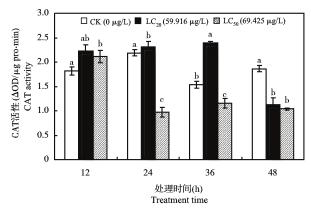


图 3 LC_{50} 和 LC_{20} 浓度的 α -萜品醇对大麦虫 4 龄幼虫体内 CAT 活性影响

Fig. 3 Effect of α -terpineol of LC₅₀ and LC₂₀ concentrations on CAT activity in the 4th instar larvae of Zophobas morio

3 结论

 α -萜品醇熏蒸实验时发现,试虫接入广口瓶初期均表现出不同程度的兴奋症状,随着处理时间的延长,处理组幼虫有的虫体渐渐变黑,表现抽搐、痉挛,并伴有吐水现象,虫体失水变软,身体萎缩,最后死亡等中毒症状;有的处理组试虫用毛笔触碰,试虫反应迟钝,根据症状分析应为麻醉之后苏醒的症状。随着 α -萜品醇作用时间的延长,其 LC_{50} 值逐渐降低,12~h 时的 LC_{50} 是 48~h 时的 1.73~倍,表明随处理时间的延长,大麦虫幼虫对 α -萜品醇的敏感性逐渐增加。本实验选用的 LC_{20} (59.916 μ g/L)和 LC_{50} (69.425 μ g/L)两个浓度的 α -萜品醇处理4 龄幼虫 48~h,只要开始处理的试虫数量较大,整个实验都可以选取到基本正常活动的幼虫。

昆虫体内的抗氧化酶主要有 SOD, POD 和 CAT 等(李毅平等, 1998),构成了昆虫体内抗氧化防御系统。药物在代谢过程中通过其自身或中间代谢物

的氧化还原循环产生大量的活性氧自由基, 如超氧 阴离子自由基 (O_2^{-1}) 、 OH^{-1} 和 H_2O_2 等, 这些活性氧 自由基若不能及时清除,则会引起氧化应激等毒理 效应(王丽平等, 2007; 郑先云等, 2008)。生物体 内的抗氧化系统是生物体抵御污染胁迫的第一道屏 障,其中SOD, POD和CAT是生物体内抗氧化防御 系统中的关键酶类,可以清除体内多余的活性氧, 从而防止机体的氧化损伤(李周直等, 1994)。马志 卿等(2004)研究表明,用松油烯4-醇处理粘虫 Mythimna separata 后,在兴奋期和痉挛期, POD 活 性被稍微抑制,但在麻痹期, POD 活性被明显抑 制;而在这3个时期,SOD活性均极显著地高于对 照。以 α-萜品醇处理黄粉虫 Tenebrio molitor, 其体 内 POD 和 SOD 活性均低于对照(王慧, 2012)。α-三噻吩 (α-terthienyl) 对淡色库蚊 Culex pipiens pallens 体内保护酶活性的抑制是其造成试虫正常生 理功能失衡, 直至死亡的主要原因(蒋志胜等, 2003)。本研究表明, α-萜品醇有效地干扰了幼虫 体内的保护酶活性, LC_{20} 和 LC_{50} 两种浓度的 α -萜品 醇处理大麦虫幼虫, 初期处理阶段, α-萜品醇刺激 幼虫, 使其体内 SOD 和 POD 活性被显著诱导增加, 而随着处理时间的延长, SOD 和 POD 活性均逐渐 被抑制; 低剂量(LC_{20})的 α -萜品醇对两种酶活性的 诱导或抑制作用均强于高剂量(LC50)的作用效果。 卢传兵等(2009)研究表明, α-蒎烯和桉树脑对玉米 象离体 CAT 活性均有抑制作用。用松油烯-4-醇处 理家蝇 Musca domestica 后, 其体内的 CAT 活性先被 抑制后逐渐被激活;松油烯4-醇处理粘虫后,在兴 奋期和痉挛期, CAT 活性变化不大, 但在麻痹期, CAT 活性被明显抑制(马志卿等, 2004)。α-萜品醇 可以抑制黄粉虫体内的 CAT 活性(王慧, 2012)。 本实验研究表明,两种浓度的 α -萜品醇对 CAT 活 性最终均有抑制作用,但LC20浓度的α-萜品醇需要 长时间(48 h)的处理后, CAT 活性才被显著抑制, 抑制率为 39.43%; LC50浓度处理幼虫, CAT 活性 先是被诱导增加,12 h 后被显著抑制。两种浓度的 α-萜品醇处理 12, 24, 36 和 48 h 对大麦虫体内 SOD, POD 和 CAT 活性的影响虽然存在差异, 但均 表现出先激活后抑制的作用。

在正常情况下,细胞内自由基的产生与清除是在 SOD, POD 和 CAT 三者协调一致,处于一种动态平衡状态,使自由基维持在一个低水平,从而防止自由基毒害,而经 α -萜品醇处理的幼虫,其体内的这种平衡受到了破坏,不能清除体内过多的 Ω_{2}^{2} ,

从而使虫体产生了氧化损伤,最终对昆虫机体产生 了毒害作用。当然,杀虫化合物在昆虫体内的反应 及昆虫对其的代谢过程均非常复杂,仅测定保护酶 系统的变化难以全面阐述其作用机理,关于α-萜品 醇对大麦虫的杀虫作用机理尚需深入研究。

参考文献 (References)

- Aucoin RR, Philogène BJR, Arnason JT, 1991. Antioxidant enzymes as biochemical defenses against phototoxin-induced oxidative stress in three species of herbivorous Lepidoptera. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 16(2): 139 152.
- Beauchamp C, Fridovich I, 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamidae gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1): 276-287.
- Bhatia SP, Letizia CS, Api AM, 2008. Fragrance material review on (-)-α-terpineol. Food and Chemical Toxicology, 46(11): 204 –205.
- Bolter CJ, Chefurka W, 1990. The effect of phosphine treatment on superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in the granary weevil, *Sitophilus granaries*. *Pesticide Biochem. Physiol.*, 36(1): 52-60.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
- Chamorro ER, Balllerini G, Sequeira AF, Velasco GA, Zalazar MF, 2008. Chemical composition of essential oil from Tagetes minuta L. leaves and flowers. Journal of the Argentine Chemical Society, 96 (1-2): 80-86.
- Chen SW, 2001. Correlation of catalase and peroxidase with pesticide tolerance in massonpine caterpillar. *Acta Entomologica Sinica*, 44 (1):9-14. [陈尚文, 2001. 马尾松毛虫过氧化物酶及过氧化氢酶与耐药性的关系. 昆虫学报, 44(1):9-14]
- Cheng BQ, Xu Y, Zeng FX, Yu XJ, Ding JK, Wu Y, 1992. Study on the introduction and chemical constituents of essential oils of *Cinnamomum burmannii* f. heyneanum. Acta Botanica Yunnanica, 14(1): 105-110. [程必强,许勇,曾凤仙,喻学俭,丁靖恺,吴玉,1992. 狭叶阴香的引种及其精油化学成分的研究.云南植物研究,14(1): 105-110]
- Cohen G, Dembieck D, Marcus J, 1970. Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Analytical Biochemistry*, 34(1): 30 38.
- Fleissner G, Fleissner G, Frisch B, 1993. A new type of putative non-visual photoreceptors in the optic lobe of beetles. *Cell and Tissue Research*, 273(3): 435-445.
- Fridovich I, 1977. Oxygen is toxic! Bioscience, 27(7): 462 466.
- Grover A, Yadav JS, Biswas R, Pavan CSS, Mishra P, Bisaria VS, Sundar D, 2012. Production of monoterpenoids and aroma compounds from cell suspension cultures of *Camellia sinensis*. *Plant Cell*, *Tissue and Organ Culture*, 108(2); 323 331.
- Grubor-Lajsic G, Block W, Telesmanic M, Jovanovic A, Stevanovic D, Baca F, 1997. Effect of cold acclimation on the antioxidant defense system of two larval Lepidoptera (Noctuidae). Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 36(1): 1-10.

- Guo Q, Zhang JX, He GM, Liu N, 2011. Study on extraction and antioxidant activity analysis of barley pest protein. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 20(2): 188 192. [郭倩,张建新,何桂梅,刘娜, 2011. 大麦虫蛋白质的提取分离及抗氧化性研究. 西北农业学报, 20(2): 188 192]
- Jiang ZS, Shang ZZ, Wan SQ, Xu HH, Zhao SH, 2003. ESR analysis of a photo-activated insecticide and its effects on superoxide dismutase, peroxidase and catalase activity in *Culex pipiens pallens*. Acta Entomologica Sinica, 46(1): 22 26. [蒋志胜, 尚稚珍, 万树青, 徐汉虹, 赵善欢, 2003. 光活化杀虫剂 α-三噻吩的电子自旋共振分析及其对库蚊保护酶系统活性的影响. 昆虫学报, 46(1): 22 26]
- Kutsch W, Urbach R, Breidbach O, 1993. Comparison of motor patterns in larval and adult stage of a beetle, *Zophobas morio*. *Journal of Experimental Zoology*, 267(4): 389 – 403.
- Lee S, Tsao R, Peterson C, Coats JR, 1997. Insecticidal activity of monoterpenoids to western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae), twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae), and house fly (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology*, 90(4): 883 892.
- Li YP, Gong H, 1998. Progress in the *in vivo* antioxidant system in insects. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 10(5): 240 243. [李 毅平, 龚和, 1998. 昆虫体内抗氧化系统研究进展. 生命科学, 10(5): 240 243]
- Li ZZ, Shen HJ, Jiang QG, Ji BZ, 1994. A study on the activities of endogenous enzymes of protective system in some insects. *Acta Entomologica Sinica*, 37(4): 399 403. [李周直, 沈惠娟, 蒋巧根, 嵇保中, 1994. 几种昆虫体内保护酶系统活力的研究. 昆虫学报, 37(4): 399 403]
- Liu JL, Wu JC, Yuan SZ, Xu JX, Jiang YH, 2001. Effects of the rice treated with herbicides on several enzymes of brown planthopper, and on incidence of rice injury by brown planthopper. *Chinese Journal of Rice Science*, 15(4): 303 308. [刘井兰, 吴进才, 袁树忠,徐建祥,姜永厚,2001. 经除草剂处理的水稻对褐飞虱体内几种酶及水稻受褐飞虱为害程度的影响. 中国水稻科学,15(4): 303 308]
- Liu LD, Gu JW, Chen JD, Wang YM, 1996. Chemical composition of the essential oils of *Artemisia annua* L. and *Artemisia apiacea* H. *Jiangxi Science*, 14(4): 234-238. [刘立鼎, 顾静文, 陈京达, 汪佑民, 1996. 黄花篙和青篙精油的化学成分. 江西科学, 14(4): 234-238]
- Liu Q, Deng ZB, Yang ZY, Jiang ZT, Jia GX, 1991. Study on the chemical constituents of the volatile oil from *Artemisia sieversiana*. *Journal of Northeast Normal University*, (2): 63 66. [刘群,邓治邦,杨智蕴,姜子涛,贾国祥,1991. 大籽篙挥发油化学成分的研究. 东北师大学报自然科学版,(2): 63 66]
- Lu CB, Xue M, Liu YQ, Liu AH, Wang HT, 2009. Insecticidal components and toxicity of *Vitex negundo* (Lamiales: Verbenaeeae) essential oil to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and their action mechanisms. *Acta Entomologica Sinica*, 52(2): 159 167. [卢传兵,薛明,刘雨晴,刘爱红,王洪涛, 2009. 黄荆精油对玉米象的杀虫活性成分、毒力及作用机制. 昆虫学报,52

- (2): 159-167
- Ma ZQ, Yan RL, Chen GQ, Li XM, Zhang X, 2004. Effect of terpinen-4-ol on the activities of endogenous enzymes of protective system in armyworm (*Mythimna separata* Walker). Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 32(10): 85 -88. [马志卿,颜瑞莉,陈根强,李喜梅,张兴, 2004. 松油烯 4-醇对粘虫体内保护酶活力的影响. 西北农林科技大学(自然科学版), 32(10): 85 -88]
- Miao SJ, Zhang YL, 2010. Feeding and degradation effect on plastic of *Zophobas morio. Journal of Environmental Entomology*, 32 (4): 435-444. [苗少娟, 张雅林, 2010. 大麦虫 *Zophobas morio* 对塑料的取食和降解作用研究. 环境昆虫学报, 32 (4): 435-444]
- Park SN, Lim YK, Freire MO, Cho E, Jin DC, Kook JK, 2012.
 Antimicrobial effect of linalool and α-terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria. Anaerobe, 18(3): 369 372.
- Scofield AM, Witham P, Nash RJ, Kite GC, Fellows LE, 1995.
 Castanospermine and other polyhydroxy alkaloids as inhibitors of insect glycosidases. Comp. Biochem. Physiol., 112(1): 187 196.
- Viviani VR, Prado RA, Arnoldi FCG, Abdalla FC, 2009. An ancestral luciferase in the Malpighi tubules of a non-bioluminescent beetle. Photochemical & Photobiological Sciences, 8(1): 57-61.
- Waliwitity R, Belton P, Nicholson RA, Lowenberger CA, 2012. Plant terpenoids: acute toxicities and effects on flight motor activity and wing beat frequency in the blow fly *Phaenicia sericata*. *Ecotoxicology*, 105(1): 72-84.
- Wang H, 2012. Insecticidal Component Extraction of Three *Artemisia* Plants and Preparation. PhD Dissertation, Northeast Forestry University, Harbin. 51-61. [王慧, 2012. 3 种蒿属植物杀虫成分提取及制剂配制. 哈尔滨: 东北林业大学博士学位论文. 51-61]
- Wang LP, Zheng BH, Meng W, 2007. Molecular biomarkers in aquatic organisms in relation to the oxidative stress imposed by environmental pollutants. *Acta Ecologica Sinica*, 27(1): 380 387. [王丽平,郑丙辉,孟伟,2007. 环境污染物对水生生物产生氧化压力的分子生物标志物. 生态学报,27(1): 380 387]
- Xu HH, Zhao SH, Zhou J, Ding JK, Yu XJ, 1994. The insecticidal constituent of essential oil from *Artemisia scoparia*. *Acta Entomologica Sinica*, 37(4): 411 416. [徐汉虹,赵善欢,周俊,丁靖恺,喻学俭,1994. 猪毛篙精油杀虫的有效成分. 昆虫学报,37(4): 411 416]
- Xu HH, Zhao SH, Zhu LF, 1993. Studies on inhibitory effects of essential oils on reproduction of stored-product insects. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 8(2):11-17. [徐汉虹, 赵善欢, 朱亮锋, 1993. 精油对储粮害虫种群的繁殖抑制作用研究. 中国粮油学报, 8(2):11-17]
- Yuan HB, Shang LN, Zhao DX, Ren BZ, 2007. Insecticidal activity of extracts from four species of Artemisia against Callosobruchus chinensis. Journal of Jilin Agricultural University, 29(6): 612 615. [袁海滨,尚利娜,赵炟焮,任炳忠,2007. 蒿属4种植物精油对绿豆象的杀虫活性测定. 吉林农业大学学报,29(6): 612-615]

- Zhang HY, Deng YX, Wang JJ, Wang J, 2004. Studies on the fumigation activity of plant essential oils against *Rhizopertha dominica* F. *Journal of Southwest Agricultural University* (*Natural Science*), 26(4): 423 425. [张海燕,邓永学,王进军,王晶, 2004. 植物精油对谷蠹成虫熏蒸活性的研究. 西南农业大学学报(自然科学版), 26(4): 423 425]
- Zheng XY, Long WM, Guo YP, Ma EB, 2008. Acute toxicities of Cd²⁺ on *Propsilocerus akamusi* (Diptera: Chironomidae). *Journal of Agro-Environment Science*, 27(1): 86-91. [郑先云, 龙文敏, 郭
- 亚平, 马恩波, 2008. Cd²⁺ 对红裸须摇蚊 *Propsilocerus akamusi* 的急性毒性研究. 农业环境科学学报, 27(1): 86-91]
- Zhou XC, 2011. Repellent and Insecticidal Activities of the Essential Oils from Leaves of *Eucalyptus* against Mosquitoes. MSc Thesis, Guangxi University of Technology, Liuzhou, Guangxi. 52 53. [周贤闯, 2011. 桉叶精油对蚊虫的驱避与毒杀作用研究. 广西柳州: 广西工学院硕士学位论文. 52 53]

(责任编辑:赵利辉)